

# 摘出肝の灌流に関する実験的研究 犬肝の長時間保存

著者	三浦 秀男
号	706
発行年	1971
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/18867">http://hdl.handle.net/10097/18867</a>

氏 名 ( 本 籍 )                      み                      うら                      ひで                      お  
三                      浦                      秀                      男

学 位 の 種 類                      医                      学                      博                      士

学 位 記 番 号                      医 博 第                      7 0 6                      号

学位授与年月日                      昭 和 4 6 年 3 月 2 5 日

学位授与の要件                      学位規則第 5 条第 1 項該当

研究科専門課程                      東北大学大学院医学研究科  
( 博士課程 ) 外科学系専攻

学 位 論 文 題 目                      摘出肝の灌流に関する実験的研究  
犬肝の長時間保存

( 主 査 )

論文審査委員 教授 葛 西 森 夫 教授 榎                      哲 夫

教授 山 形 徹 一

## 論 文 内 容 要 旨

肝臓保存の問題は、肝臓移植に不可欠のものである。保存方法はいくつかあるが主なものは灌流保存である。保存肝の *viability* の判定は最も重要な事であるが、未だ解決されていず、灌流法、灌流液と共に多くの問題を残している。これ迄稀釈血液を高圧酸素化装置を用いて灌流する方法が主流を占めているが8~12時間が限度であつた。最近灌流液を血清や *Tissue culture 199* を用いてさらに長時間の保存が可能となつて来ている。私は肝移植を前提にさらに長時間安定した灌流保存を得て、保存中の肝の *viability* の指標も得るため独自に開発した毛細管式膜型人工肺と定圧灌流装置を用い、灌流液の性状をかえて肝の保存状態を、肝機能検査、肝の物理的变化及び組織学的所見より検索した。

### 実 験 方 法

犬摘出肝を平圧4℃下で、毛細管式膜型人工肺を用い、肝動脈は定圧灌流装置を、門脈は水圧方式で灌流保存した。灌流液はヘパリン加犬血清を用い、-20℃に24時間以上凍結した後、急速溶解し、フィブリンを除き、25  $m\mu$  の *microfilter* を通したものを使用した。添加物は、*Hydrocortisone*、抗生物質、*Insulin*を加え、滲透圧は300  $mOsmol/L$  前後に、*pH* は *sodium bicarbonate* で7.4前後にした。対照群として *Low molecular Dextran* で稀釈した血液を用いた。摘出肝の重量は300~400  $g$  で、灌流液量は700  $ml$  と重量の約2倍にした。検査項目は、血清トランスアミナーゼ (*GO T*, *GPT*)、アルカリフォスファターゼ、電解質 (*Na, K*)、滲透圧、胆汁分泌量とビリルビン濃度、肝動脈圧と血流量、肝の酸素消費量及び肝重量等について経時的に検索した。肝の組織像についても *H-E*, *PAS*, *Sudan III* 等の染色標本をつくり、又電顕標本も作製した。この実験で、灌流中肝動脈圧と血流量にほとんど変化を来さなかつた。肝機能検査では、ビリルビン濃度が対照の血液稀釈群で少し悪い他は差は認められず、組織学的所見で血清群は30時間後もほぼ正常に近い像であつた。しかし血液稀釈群では、肝細胞の膨化、空胞化が著明であつたが、血清群でも肝重量の増加が10%以上のものは組織像に変化を認めた。酸素消費は4℃では常温の1~2%に減少し、経時的にあまり変動はない。この結果より、灌流液として血液より血清がよいこと、肝の酸素需要に見合う十分の灌流量と酸化が得られるならば平圧で灌流出来る事がわかつた。しかしヘパリン加血清では充分にフィブリンを除去出来ず、血管の閉塞も考えられるため、ヘパリンを加えない脱フィブリン血清を中心に灌流液を3群にわけて、さらに検討した。組成は①脱フィブリン血清 (血清群) ②脱フィブリン血清に組織栄養源として *Tissue culture 199* を等量加え蛋白量を3.0~3.5  $g/dl$  としたもの (血清+199群) ③199に *Hydroxyethyl starch* を6%になるよう加えたもの (*HES*

群の3群にわけ、添加物、滲透圧、PH及び灌流装置は前述と同様にし4℃下で行った。肝の viability を見る目的で、28時間低温灌流後新たに灌流液をpH8の乳酸加リンゲル液でHt約15%に希釈した血液にかえて急速加温し、36℃下で灌流状態が安定した時点で1時間の灌流を施行した。肝動脈圧は低温時60~70 mmHgから加温時120~130 mmHgに、肝血流量は低温時0.2~0.4 ml/g-liver/minから加温時0.6~0.8 ml/g-liver/minにかえて灌流した。血清群は9例、血清+199群、HES群は共に4例である。検査項目もLactic dehydrogenase (LDH),  $\beta$ -glucuronidase ( $\beta$ -G), 酸フォスファターゼ (Acid Pase)を加え、組織学的検索も経時的にした。

## 結

## 果

GOT, GPTは各群とも上昇傾向を示すが、28時間で200前後である。胆汁分泌は低温時は各群とも4時間で1~2 mlでビリルビン濃度もほぼ一定である。加温後は分泌量、ビリルビン濃度は増し、特に血清+199群で著しい。電解質はほぼ正常である。肝アミノ酸代謝の示標として灌流液の $\alpha$ -アミノ酸の動向をみたが特に差はない。肝lysosomeに含まれる $\beta$ -G, Acid-Paseは血清群のみ高値をみた。LDHは低温時には血清群のみ高値をみたが、加温後は3群とも高値を示した。血糖値はほぼ正常で一定に保たれた。組織学的所見では、H-E染色で血清群の28時間目はほぼ正常であるが、加温後肝細胞の染色性の濃淡と軽度の細胞膨化がみられた。一方血清+199群では加温後もほぼ正常に近い組織像を示した。前2者に比べ、HES群では28時間目すでに肝細胞胞体内の空胞と局所的な肝細胞の萎縮がみられ、加温後その変化はさらに著しくなり、Sinusoidのうつ血と浮腫をみた。尚PAS染色でも各群で同様の傾向がみられた。電顕所見では血清群及び血清+199群の28時間目で、核、細胞膜、mitochondria, microvilli共に正常に近い構築を保っているが、小胞体は空胞化を示した。しかし両群での差は特に認められない。これに比べHES群では細胞構築はほぼ正常に近いが、巨大空胞が細胞質内に多数散在し、glycogen大の顆粒も多数認められた。加温後のうつ血肝の発生は血清群で9例中3例、HES群で4例中2例あり、血清+199群では1例も認められない。

## 考

## 按

犬摘出肝を4℃下平圧で毛細管式膜型人工肺を用い28時間灌流し、さらに1時間の36℃下灌流した結果、血清+199群で良好な結果を得た。保存肝のviabilityの指標にK<sup>+</sup>イオン, GOT, GPTが有用であるという報告もあるが、実験結果では低温中に3群での差は認められない。その他の検査でも指標とならないにもかかわらず、光学的・電顕学的所見では低温28時間目の血清群と血清+199群で、正常肝に近い構築を保っている。特に血清+199群では、加温後に胆汁、ビリルビン濃度が高値を示し、又うつ血肝を生ぜず、肝の再生能力を考慮すると充分に移植に適していると思われる。又肝のviabilityの指標には、加温して胆汁の排泄状態、うつ血肝の有無を知る事も有効と思われる。

## 審 査 結 果 の 要 旨

体外に摘出した肝の保存研究の歴史は比較的浅し、特に10時間以上の長時間保存の研究は極めて少い、保存法は、現在では低温灌流保存が主流となつてゐるが、保存の成否に関係する因子が甚だ多いため未解の問題が多く、灌流装置も灌流液も確立された方法がないと云つてよい。

著者の低温灌流保存装置は、肝動脈と門脈を分離し、肝動脈はCapacitanceによつてSigma波を自然波型に変形し、原にPneumatic resistanceを用いて定圧で送血し、門脈は波型をなくしてhydrostaticに送血出来ることは、低温の条件下でも可成り生理的条件に近いと思われる。独自に試作した毛細管式膜型人工肺は酸化効率が良く、高気圧酸素装置を必要とせず充分な酸素供給を可能とさせ、また装置全体のPriming volumeが700~800mlの少量で済むことも重要な利点である。

28時間の長時間灌流保存を行ない、経時的肝機能検査、離脱酵素類の測定、無機質類の測定および光顕、電顕による組織学的検索を行ない、更に28時間保存后常温に加温し、稀釈血灌流によつてそのViabilityをみている。

5種の灌流液を用いて比較検討しているが、著者は稀釈全血よりもBelzer氏法による脱フィブリレ、脱変性蛋白血清を用いる方が肝灌流の場合でも毛細血管栓塞が少し優れていることを確認した。著者は脱フィブリンをより完全にするために全血を完全凝血させて分離した血清によりBelzer氏法によるよりも明かに良好な灌流を得た。更に血清のみによる灌流の場合の高膠質透過圧の末梢循環に及ぼす影響および栄養補給を考慮して、脱フィブリレ血清に等量のMedium 199を加えたものを用いることにより、他の灌流液と比較して一段と良好な灌流保存を得ることに成功した。また肝再移植時血清灌流の場合の異種蛋白移入による免疫学的な問題を除外する目的で、膠質液として血清の代りにHydroxyethyl starchを用いた群も可成り良好な成績を得た。

凝血法による脱フィブリレ血清、HES+199、脱フィブリレ血清+Medium 199の3群は何れも諸検査成績は著しく良好で、特にリゾソーム酵素の離脱が少く、K変動がなく、その組織所見も甚だ良好である。特に脱フィブリレ血清+Medium 199群が最も優れており、28時間でもほぼ正常の組織構造を維持しており、他者の報告例に比して良好である。

独自の灌流装置と灌流液の改良によつて、28時間の長時間に互つて良好なViabilityを有する肝灌流保存に成功したことは、今後の臓器移植や生理学的研究に資することが大きく、学位授与に値するものと認める。